

Vergleichende Desinfektionsversuche
an *Mycobacterium paratuberculosis*
mit Formalin und Sigambol A

Karl Metz

Aus dem Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. A. M e y n

Vergleichende Desinfektionsversuche an

Mycobacterium paratuberculosis mit Formalin und Sigambol A



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Von
Karl M e t z
aus
Winbuch / Opf.

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. A. M e y n

Tag der Promotion: 25. Juli 1958

Meinen lieben
Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht	2
A. Die Bedeutung der Paratuberkulose	2
Epidemiologie	3
Bekämpfungsmaßnahmen	5
B. Über die Prüfung von Desinfektionsmitteln und ihre tuberculocide Wirkung	7
1. Zur Problematik der Desinfektionsmittelprüfung	7
2. Die Auswahl des Keimmaterials	10
3. Desinfektionsmittel	12
a) Natronlauge	12
b) Kalkmilch	13
c) Chlorverbindungen	13
d) Kresol- und phenolhaltige Mittel	14
e) Formaldehyd	14
f) Glykole	16
g) Koniferenöle	18
III. Eigene Untersuchungen	22
A. Material und Methode	22
B. Versuchsergebnisse	24
C. Besprechung der Ergebnisse	32
IV. Zusammenfassung	35
V. Literaturverzeichnis	36
Lebenslauf	42

I. Einleitung

Die Stalldesinfektion spielt bei der Bekämpfung der Rindertuberkulose eine wichtige Rolle. Dabei ist in den vergangenen Jahren immer wieder die Forderung nach einem gut baktericid wirkenden und toxikologisch unbedenklichen Desinfektionsmittel, das den Verhältnissen der Praxis weitgehendst entgegenkommt, laut geworden.

Auch bei der Paratuberkulose des Rindes, die in Deutschland zwar nur sporadisch und selten in größeren Seuchenzügen aufzutreten pflegt, aber trotzdem innerhalb der betroffenen Bestände oft schwere wirtschaftliche Verluste verursacht, ist für den Erfolg der Bekämpfung eine wirksame Desinfektion der verseuchten Rinderställe neben der Ausmerzungen der Ansteckungsquellen nicht zu umgehen.

Neben der praktischen Beurteilung eines Desinfektionsmittels hinsichtlich seiner Baktericidie ist auch die Kenntnis der Chemoresistenz des spezifischen Erregers von größter Bedeutung. Die Beantwortung der Frage, welche Beziehungen zwischen der keimabtötenden Wirkung des verwendeten Mittels, seiner Konzentration und der Einwirkungszeit bestehen, kann in Desinfektionsmittelprüfungen weitgehend ermittelt werden.

Über die Resistenz von Tuberkelbakterien gegenüber den verschiedensten Desinfektionsmitteln sind schon umfangreiche Untersuchungen durchgeführt worden. Über die Chemoresistenz der Paratuberkelbakterien fehlen dagegen entsprechende Versuche. Vorliegende Arbeit beschäftigt sich daher mit vergleichenden Desinfektionsversuchen an Tuberkel- und Paratuberkelbakterien unter Anwendung der von M e y n und S c h l i e s s e r (33) angegebenen Suspensionsmethode.

II. Literaturübersicht

A. Die Bedeutung der Paratuberkulose

Im Jahre 1895 haben J o h n e und F r o t h i n g h a m die Paratuberkulose des Rindes zum ersten Male bakteriologisch untersucht und die Ätiologie der Seuche geklärt. Der Erreger, das Mycobacterium paratuberculosis, ist ein kleines, säurefestes, unbewegliches Stäbchen, das mikroskopisch meistens in Haufen oder Nestern angetroffen wird. Seine Darstellung gelingt durch die Ziehl-Neelsen Färbung.

Die Paratuberkulose kommt hauptsächlich bei Rindern, mitunter aber auch bei Schafen und Ziegen vor. Die Krankheit verläuft schleichend und tritt klinisch unter den Erscheinungen zeitweiliger Durchfälle und fortschreitender Abmagerung auf. Pathologisch-anatomisch findet man vor allem im Bereich des Jejunums und Ileums eine Hypertrophie der Darmschleimhaut, die oft durch wulstige, unverstreichbare Längs- und Querfalten ein gehirnwindungsähnliches Aussehen bekommt. Die zugehörigen Mesenteriallymphknoten sind vergrößert, weich und durchsaftet.

Da das Krankheitsbild der Paratuberkulose vielfach den Begleiterscheinungen anderer Erkrankungen des Magen-Darmtrakts ähnlich ist, kann die Diagnose nicht allein auf Grund der klinischen Symptome gestellt werden. Zur Sicherung der Diagnose werden neben dem bakteriologischen Nachweis der Keime im Kot oder Schleimhautstückchen vor allem die allergischen Proben mit Geflügeltuberkulin oder Paratuberkulin (J o h n i n) herangezogen. Dabei hat sich nach M e y n (32) die Intracutanprobe mit J o h n i n gegenüber anderen Impfverfahren und auch gegenüber dem Geflügeltuberkulin, dem vielfach der Nachteil einer erheblichen Unspezifität anhaftet, als die leistungsfähigere erwiesen. Nach S c h a a f, B e e r w e r t h und G r o d d e (40) ist jedoch die Reaktionsfähigkeit auf aviäres Tuberkulin und Paratuberkulin gleich. Die Untersuchung des Serums mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion bezeichnen die Autoren als bestes Mittel zur Erkennung der im klinischen wie auch im subklinischen Stadium befindlichen Tiere.

Epidemiologie:

Die Paratuberkulose des Rindes kommt nach H u t y r a und M a r e k (24) in Europa viel häufiger vor, als gewöhnlich angenommen wird. Namentlich dürften manche Fälle von chronischem Darmkatarrh, denen mitunter wenig Bedeutung geschenkt wird, hierher gehören. Wie aus einer Zusammenstellung von H u b e r (23) über das Vorkommen der Paratuberkulose des Rindes in Großdeutschland hervorgeht, ist sie mit wenigen Ausnahmen in ganz Deutschland in verschieden starkem Ausmaß verbreitet. In gehäuften Massen trat die Seuche nach dem ersten Weltkrieg in der Provinz Ostpreussen auf, wo sie durch die schlechten Ernährungsbedingungen der Nachkriegsjahre und den durch den Rindermangel bedingten Zukauf, zum Teil aus Ostpreussen selbst, zum überwiegenden Teil aber aus Ostfriesland, besonders seuchenhaften Charakter annahm. Von einem verhältnismäßig häufigen Auftreten wird auch in Westfalen und Oldenburg berichtet. In den übrigen Provinzen Preussens (Pommern, Ober- und Niederschlesien, Brandenburg, Hannover) und in den Ländern Sachsen, Baden, Bayern, Württemberg sind nur vereinzelte Seuchenfälle bekannt. Die Länder Thüringen, Hessen, Braunschweig und Anhalt werden nicht oder nur selten von paratuberkulösen Krankheitsfällen betroffen.

In den europäischen Ländern wird die Paratuberkulose des Rindes nach B i e r b a u m (4) in Holland, Dänemark, Österreich, England, Frankreich, Schweden, Rußland, in den außereuropäischen Ländern in U S A, Kanada, Australien, Argentinien und Indien beschrieben. Daraus ist ersichtlich, daß die Paratuberkulose des Rindes in Ländern mit der verschiedensten geographischen Lage sowie unter unterschiedlichen klimatischen, geologischen, Fütterungs- und Haltungsverhältnissen vorkommt.

Andererseits sollen nicht zuletzt auch bestimmte Bodenstrukturen und Futterverhältnisse einen Einfluß auf die Begünstigung eines Seuchenausbruches haben. So sieht F o r t m a n n (10) in saueren und nassen Weiden sowie feuchten und schweren Böden ein prädisponierendes Moment für das Auftreten der Seuche. S p i c e r (46) mißt dem Kalkmangel des Bodens eine besondere Bedeutung zu. Er bezeichnet die Paratuberkulose als Kalkmangelkrankheit. Nach seinen Angaben herrschte um das Jahr 1905 auf der Insel Jersey die Krankheit derart, daß sie die Fortsetzung der Rinderzucht aufs äußerste gefährdete. Als man nach Feststellung der Kalkarmut des Bodens diesen mit Kalk düngte, verschwand die Paratuberkulose des Rindes fast vollständig. S p i c e r berichtet auch über die günstige Wirkung durch Verfütterung von Knochenmehl und Schlemmkreide, worin er eine weitgehende Bestätigung seiner Auffassung fand.

In den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preussens 1933/34 vertritt der Berichterstatteer des Kreises Gumbinnen die Auffassung, daß ein hoher Grad an Acidität des Darminhalts bzw. Futters die Voraussetzung für die Ansiedlung der ubiquitär verbreiteten Paratuberkelbakterien ist. Diese Voraussetzungen können eintreten nach Schlempefütterung, Verabreichung von Heu saurer Wiesen, starker Eiweißfütterung oder nach längeren therapeutischen Salzsäuregaben (zit. nach B i e r b a u m (4)).

S c h a a f, B e e r w e r t h und G r o d d e (40) berichten in einem Überblick über die Verteilung der Paratuberkulose im Regierungsbezirk Arnberg, daß die Paratuberkulose am stärksten in den bodenmäßig gut gestellten Nordkreisen des Bezirks mit ihrem intensiven Rübenbau in Erscheinung tritt. In den Bergkreisen des Sauerlandes sind dagegen wenige klinische und pathologisch-anatomische Fälle bekannt. Die Autoren nehmen an, daß die Paratuberkulose auch in dem höheren Sauerland verbreitet ist, zumal Einschleppungsmöglichkeiten durch den starken Viehverkehr in reichem Maße gegeben sind. Es hat jedoch den Anschein, als ob die wenig intensive Winterfütterung, bei der vor allem reichlich Heu verabreicht wird, den Ausbruch der Seuche bis zu einem gewissen Grade verhindern würde.

E r i c h s o n (9) macht besonders konstitutionsschwächende Einflüsse wie schlechte Ernährungsverhältnisse, mineralstoffarmes Futter, Überanstrengungen, Schweregeburten sowie hohe Milchleistungen für den Ausbruch der Seuche verantwortlich.

Auf Grund der weiten Verbreitung der Seuche in den europäischen und außer-europäischen Ländern ist die Rassendisposition von untergeordneter Bedeutung. Nach H u b e r (23) und B i e r b a u m (4) werden Tiere verschiedener Rasse und verschiedenen Geschlechts von der Krankheit befallen.

Über den Einfluß der Begünstigung einer Infektion durch die Stall- oder Weidhaltung herrscht mitunter geteilte Meinung. Nach M e y e r (31) vollzieht sich die Infektion hauptsächlich beim Weidegang. Auch H u t y r a und M a r e k (24) sehen auf der Weide, in den Tümpeln und Pfüten, die durch Entleerungen kranker Tiere verunreinigt worden sind, eine besondere Gefahr. Da der Krankheitserreger, gleichwie der Tuberkuloseerreger, nur sehr schwer abgetötet werden kann, können verseuchte Weideplätze monatelang gefährlich bleiben. S c h a a f, B e e r w e r t h und G r o d d e (40) berichten ebenfalls, daß sie mehrmals Gelegenheit hatten, gemeinsame Weidetränke für verseuchtes und unverseuchtes Vieh als Infektionsquellen zu ermitteln.

Nach Beobachtungen von M i e s s n e r und T r a p p (34) bildet die

Stallhaltung die günstigsten Voraussetzungen für ein Ausbreiten der Seuche. M e y n (32), F ö r t m a n n (10), E r i c h s o n (9) und B i e r b a u m (4) sehen gleichfalls in der mangelhaften Stall- und Fütterungshygiene die besondere Möglichkeit einer Infektion. Als Übertragungsquellen kommen dabei ausschließlich die Aufnahme von Futtermittel und Trinkwasser, die mit bakterienhaltigem Kot verunreinigt worden sind, in Betracht.

In gesunde Bestände wird die Seuche durch neuaufgekaufte, kranke und latent infizierte Tiere eingeschleppt. B i e r b a u m (4), H u b e r (23) und E r i c h s o n (9) führen die Verbreitung der Seuche in erster Linie auf den Viehverkehr zurück.

Eine intrauterine Ansteckung ist nach M i e s s n e r und T r a p p (34) wissenschaftlich nicht haltbar. Sie wiesen nach, daß die Übertragung nicht durch Blut, Harn und reingewonnener Milch, sondern nur durch die mit dem Kot ausgeschiedenen Bakterien erfolgt. A l e x j e f f - G o l o f f (1) hält jedoch auch eine Ansteckung auf diaplacentarem Wege für möglich.

Die Empfänglichkeit für Paratuberkelbakterien ist nach H a g a n (15), M e y n (32) und E r i c h s o n (9) in den ersten Lebenswochen und Monaten für Kälber besonders groß. Auch H u t y r a und M a r e k (24) schreiben, daß Jungtiere besonders empfänglich sind. Die offensichtlichen Zeichen der Krankheit stellen sich nach einer langen Inkubationszeit bei Kühen erst im Alter von 3 - 6 Jahren ein. Die Krankheit kann nämlich durchaus latent bleiben. Bricht sie aber in klinisch erfaßbarer Form aus, so geschieht dies erst nach Jahren, in denen der Krankheitsvorgang durch ungünstige Einflüsse angefacht wird.

Bekämpfungsmaßnahmen:

Versuche, die Paratuberkulose des Rindes immunbiologisch oder mittels therapeutischer Maßnahmen zu bekämpfen, sind wohl wiederholt unternommen worden, haben aber in Deutschland keine praktische Bedeutung erlangt. Von den bisher empfohlenen Schutzimpfungen hat nur das von V a l l é e und R i n j a r d angegebene Verfahren in der Praxis Eingang gefunden. Sie empfehlen als Impfstoff mit Bimsteinsand und Vaselineöl oder Olivenöl fein verriebene Kulturen des Erregers. Nach subcutaner Impfung entsteht bei gesunden Tieren ein derber Knoten, der ungefähr ein Jahr bestehen bleibt, wobei die

darin eingeschlossenen Bakterien eine immunisierende Wirkung entfalten sollen. Dahingegen werden bei angesteckten Tieren die verimpften Keime innerhalb von 3 - 4 Wochen resorbiert oder nach der Demarkation des Impfherdes ausgestoßen. Auf diese Weise soll in Frankreich seit vielen Jahren bei 168 durchgeimpften Beständen mit 6850 Rindern kein einziges an Paratuberkulose erkrankt sein (zit. nach H u t y r a und M a r e k (24)).

S c h a a f, B e e r w e r t h und G r o d d e (40) lehnen jedoch eine Schutzimpfung mit lebenden Paratuberkelbakterien ab, da vaccinierte Tiere lange Zeit serologisch und allergisch reagieren können. Wegen der häufig starken Mitreaktion auf Rindertuberkulin ist die Erkennung eines tuberkulösen Einbruchs in einen solchen Bestand unmöglich und so eine Gefährdung des Tuberkulose Tilgungsplanes unausbleiblich.

Die wichtigsten Vorkehrungen, die zur Tilgung der Seuche oder zur Verhinderung einer weiteren Ausbreitung zu treffen sind, sind vorwiegend prophylaktischer und hygienischer Art. Da die Krankheit in Deutschland nur in sporadischen Einzelfällen und selten in größeren Seuchenherden vorkommt, werden auch keine besonderen veterinärpolizeilichen Bekämpfungsmaßnahmen getroffen. M e y n (32) schlägt für die Sanierung eines Bestandes einen Behandlungsplan vor, der sich hauptsächlich auf folgende Punkte stützt:

- a) Ausmerzung aller Tiere, bei denen durch die klinische, bakteriologische oder allergische Untersuchung Paratuberkulose ermittelt worden ist.
- b) Laufende klinische, bakteriologische oder allergische Untersuchungen in verseuchten und gefährdeten Beständen.
- c) Absonderung verdächtiger Tiere.
- d) Paratuberkulosefreie Aufzucht von Kälbern in verseuchten Beständen.
- e) Periodische Reinigung und Desinfektion der Stallungen.

Nach S c h a a f, B e e r w e r t h und G r o d d e (40) sollten zum Schutz gesunder Bestände vor Einschleppung von Paratuberkulose beim Handel mit Nutz- und Zuchtvieh dieselben Beschränkungen gelten wie bei Tuberkulose. Ebenso sollten serologisch und allergisch positive Tiere vom gemeinsamen Weidegang zurückgewiesen werden.

B. Über die Prüfung von Desinfektionsmitteln und ihre tuberkulocide Wirkung

1. Zur Problematik der Desinfektionsmittelprüfung

Bevor ein Desinfektionsmittel zur Stalldesinfektion empfohlen werden kann, muß zunächst sein baktericider Effekt in Desinfektionsmittelprüfungen ermittelt werden. Die Vielfalt der angewandten Prüfungsverfahren und die Unterschiedlichkeit in der Auswahl des Materials stellt aber nach Ansicht fast aller Autoren, die sich damit beschäftigten, eine besondere Problematik dar. So schreiben T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48), daß allen Baktericideversuchen der Mangel einer anerkannten standardisierten Methodik anhaftet. Die Feststellungen der einzelnen Autoren über die baktericiden Eigenschaften ein und desselben Präparates bewegten sich infolge Uneinheitlichkeit der Auffassungen in Grundfragen der Technik und Methodik vielfach in so weiten Grenzen, daß Vergleiche hierdurch erschwert werden. H o l z (20) betont ebenfalls die Notwendigkeit auf dem Gebiete der Untersuchungstechnik für Desinfektionsmittel grundlegende Arbeit zu leisten. Nach seinen Erfahrungen kann der Einfluß eines Prüfungsverfahrens und der darin enthaltenen Fehlerquellen auf das Ergebnis einer bakteriologischen Desinfektionsmittelprüfung nicht hoch genug eingeschätzt werden. Die Bewertung eines Desinfektionsmittels sollte durch Vergleich mit anderen in ihrer Wirkung bekannten Präparaten erfolgen. Von ausschlaggebender Bedeutung ist auch die Einbeziehung des Zeitfaktors und die quantitative Auswertung, d.h. die Beantwortung der Frage, welcher Prozentsatz der den Desinfektionsmitteln ausgesetzten Keime nach einer bestimmten Einwirkungszeit abgetötet wurde.

Ähnliche Forderungen stellen M e y n und S c h l i e s s e r (33) an die Prüfung eines Desinfektionsmittels. Sie betonen, daß es in erster Linie darauf ankommt, die reine baktericide Wirkung eines Präparates zu ermitteln und die Frage zu klären, welche Beziehungen überhaupt zwischen keimabtötender Wirkung, Konzentration und Einwirkungszeit bestehen. Der Suspensionsversuch, der diese Forderungen weitgehendst erfüllt, sollte deshalb als Grundlage eines jeden Prüfungsverfahrens angesehen werden. Der Vorteil dieser Methode liegt zudem in der Einfachheit und in der Gewährleistung einer genauen Feststellung des baktericiden Effekts. Auch kann dieses Verfahren so standardisiert werden, daß die Ergebnisse verschiedener Untersucher miteinander verglichen werden können, was im Interesse einer einheitlichen Beurteilung von Desinfektionsmitteln unbedingt erforderlich ist. Die Autoren bezeichnen die Wirkung eines Desinfektionsmittels unter praktischen Verhältnissen viel zu mannigfaltig, als daß sie von einer schematisierten Prüfungsmethode erfaßt und berück-

sichtigt werden können. Das ergibt sich schon aus der großen Zahl der bisher verwendeten Keimträger, die auf die Unsicherheit hinsichtlich der Auswahl geeigneter Modelle hinweist.

T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) sehen den Vorteil der Suspensionsmethode vor allem in dem quantitativen Arbeiten mit genau dosierten Bakterienmengen, die man nach Wunsch variieren kann. Auf diese Weise kann der baktericide Effekt unter den gleichen quantitativen Bedingungen ermittelt werden. Der Keimträgerversuch dagegen berücksichtigt das quantitative Moment in geringerem Maße, kommt aber den Verhältnissen der Praxis etwas näher, da die Erreger mitunter an Substrate und Keimträger verschiedenster Art adsorbiert sind. T r a u t w e i n und Mitarbeiter erblicken in der kombinierten Anwendung beider Methoden eine Möglichkeit, um gültige Resultate zu erhalten.

Auch Z e l l e r (51) unterscheidet grundsätzlich zwei Versuchsarten: Den exakten Versuch, dessen Aufgabe es ist, die Wirkung des Mittels möglichst scharf zu erfassen und Störungen durch andere Einwirkungen auszuschalten und den praktischen Versuch, der die natürlichen, in der täglichen Praxis vorkommenden Bedingungen, also die Wirkung auf die verschiedensten, mit Infektionserregern behafteten Objekte berücksichtigt. Über den praktischen Wert oder Unwert eines Desinfektionsmittels entscheidet der angewandte Versuch, während der reine Versuch den Desinfektionswert eines Mittels, d.h. die Beziehung zwischen seiner Konzentration und der von den Keimen eben nicht mehr überlebten Einwirkungsdauer feststellt. Ein Standardverfahren für den praktischen Versuch sieht Z e l l e r wegen der mannigfachen Bedingungen der praktischen Anwendung zum Scheitern verurteilt, während er für den exakten Versuch eine solche Standardisierung für möglich hält.

H e i c k e n (18) dagegen macht das Verfahren der Desinfektionsmittelpfprüfung von der chemischen Zusammensetzung des zu prüfenden Mittels abhängig. Nach seinen Erfahrungen ist es nicht möglich, eine Einheitsmethode für diesen Zweck zu finden. Ob man zweckmäßig die Suspensionsmethode oder den Keimträgerversuch anwendet, muß von Fall zu Fall entschieden werden. H e i c k e n b e v o r z u g t die H a i l e r 'sche Batismethode, wenn die Wirkung von Phenolen und teeröhlhaltigen Präparaten gegenüber vegetativen Keimen ermittelt werden soll. Die Suspensionsmethode dagegen findet Anwendung zur Prüfung von Präparaten, deren Lösungen sehr starke oberflächenaktive Eigenschaften (z.B. die quartären Ammoniumsalze) enthalten. Der Autor betont, daß die Bestimmung der reinen Desinfektionswirkung darüber Auskunft gibt, ob das Präparat überhaupt baktericide Eigenschaften besitzt und welche Konzentrationen und Einwir-

kungszeiten mindestens anzuwenden sind, um unter erschwerten Bedingungen eine Wirkung zu erzielen.

G u s t und W i t z e n h a u s e n (14) sprechen sich in erster Linie für eine Versuchsanordnung aus, die die Verhältnisse der Praxis weitgehend nachzuahmen versucht. Die Autoren vertreten die Ansicht, daß die meisten Untersucher bei Desinfektionsmittelprüfungen die natürlichen Verhältnisse zu wenig berücksichtigen, unter denen das Präparat bei der praktischen Desinfektion wirken muß.

Die Schwierigkeit einer einheitlichen Bewertung eines Desinfektionsmittels unter Berücksichtigung seiner praktischen Anwendung zeigt sich besonders in den zum Teil sehr verschiedenen Versuchsergebnissen bei der Testung von Koffenolölen, die nicht zuletzt auf der Unzulänglichkeit methodischer Verfahren beruhen. Schon allein die Auswahl der Keimträger, auf die H o l z (20) in einer umfassenden Arbeit näher eingeht, bietet erhebliche Schwierigkeiten. Nach seinen Forderungen müssen die Keimträger gewisse physikalische Eigenschaften (wasserfrei, glatt, rau, saugfähig und nicht saugfähig) besitzen und möglichst weitgehend den natürlichen Verhältnissen entsprechen. Auch die Möglichkeit einer baktericiden Wirkung von Keimträgern muß ausgeschaltet werden, was durch die Verwendung von Papier, Agar, Glas und Gips weitgehendst behoben wird. Für die gründliche Trennung der Keime von Desinfektionsmittel, Keimmedium und Keimunterlage empfiehlt der Autor die Starmixmethode. Durch dieses Verfahren soll die Gefahr, die bakteriostatische Wirkung bei Desinfektionsmittelprüfungen als baktericide Wirkung zu werten, ausgeschaltet werden.

Auch die Expositionsmöglichkeiten der Keimträger im Raume sind nach H e i c k e n (19), G u s t und W i t z e n h a u s e n (14) von entscheidendem Einfluß auf das Ergebnis einer Desinfektionsmittelprüfung. Die Autoren fanden in ihren Versuchen an möglichst naturgetreuen Modellen, daß senkrechte Flächen wesentlich schwieriger zu desinfizieren sind als waagrechte, da sich auf letzteren die Desinfektionsflüssigkeit leichter ansammeln läßt.

Von besonderer Bedeutung ist nach T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48) bei Verwendung eines Desinfektionsmittels im Spray- oder Aerosolverfahren eine zuverlässig arbeitende Apparatur, die für einen gleichmäßigen Desinfektionsmittelfilm an Flächen bzw. für eine ausreichende Konzentration schwebender Teilchen von bestimmter Größe (0 - 25 μ) im Raume Sorge. Vor allem bei Anwendung eines Präparates in Aerosolforn. müssen nach H o l z (21)

sowie K l i e w e (25) eine Reihe von Faktoren berücksichtigt werden. So hängt die Wirksamkeit eines Aerosols neben der baktericiden Wirkung eines Präparates, das in konzentrierter Form vernebelt wird, von der Luftfeuchtigkeit, der Temperatur, dem Luftdruck, der Luftbewegung im Raume und der Luftbewegung Raumluft-Außenluft ab. Weiterhin spielen die Oberflächenspannung, elektrische Ladung und Partikelgröße der Aerosolteilchen eine Rolle.

Noch komplizierter sind die Bedingungen, unter denen ein Desinfektionsmittel wirken soll, wenn man sich die denkbar ungünstigen Verhältnisse im Stall gegenwärtigt. Auf sie macht besonders H e i c k e n (17) aufmerksam. Danach sind die hygienisch schlechten Zustände im Stall (aufgerauchtes Mauerwerk und raue Holzflächen, die mit einer mehr oder minder dicken Schicht Kot oder infiziertem Stalldünger verunreinigt sind) von besonderem Einfluß auf die Wirkung eines Desinfektionsmittels. Das Desinfektionsmittel kann zudem zu einem großen Teil durch die Keimunterlage und Ausscheidungen der Tiere physikalisch durch Adsorption oder chemisch infolge ihres Reaktionsvermögens von der eigentlichen Aufgabe der Keimtötung abgelenkt werden. Die Anwendung der Desinfektionsflüssigkeit, die dazu noch an vertikalen Flächen abläuft oder durch chemische und physikalische Vorgänge eine Verarmung des Desinfektionsmittelfilms bedingt, ist außerdem beschränkt. Von weiterem Einfluß auf die baktericide Wirkung eines Präparates ist nach Ansicht des Autors der Temperaturkoeffizient. Bei niedrigen Temperaturen ist die keimtötende Wirkung der meisten Präparate stark herabgesetzt.

2. Die Auswahl des Keimmaterials

Auch die Auswahl des Keimmaterials erfolgt nicht nach grundsätzlich einheitlichen Richtlinien. S c h ä l l i b a u m (41) verwendete in seinen Versuchen nie Tuberkulosekulturen, sondern stets frisches, von nicht vorbehandelten Patienten stammendes Sputum.

B ö r g e r (5) hält die Prüfung von Tuberkelbakterien in ihren natürlichen Sekreten und Exkreten, wie Milch, Gebärmutter Schleim, Sputum, Kot, Eiter und ähnliches für besonders geeignet, da diese Keime hierin außerordentlich gut und den natürlichen Verhältnissen entsprechend geschützt sind.

Auch H o l z (20) verlangt die Einhüllung der Keime in Milch, Eigelb und Sputum, wie sie unter natürlichen Verhältnissen anzutreffen sind. Die Verwendung von kulturellem Ausgangsmaterial hält der Autor durchaus für vertretbar, doch sollte die Virulenz der verwendeten Stämme vorher im Tierversuch ge-

prüft werden. T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) sprechen sich grundsätzlich für die Verwendung von kulturellem Keimmaterial aus. Sie fanden, daß künstlich gezüchtete Tuberkelbakterien viel virulenter sind und eine stärkere Chemoresistenz besitzen als die Erreger in tuberkulösen Ausscheidungen. Die Autoren betrachten die Verwendung von Teststämmen mit sehr unterschiedlicher Chemoresistenz als einen entscheidenden Einfluß für die Sicherung der in Desinfektionsmittelprüfungen erhaltenen Resultate. In ihren Versuchen und in Untersuchungen von N a s s a l (35) zeigten Tuberkelbakterien erhebliche Resistenzschwankungen sowohl innerhalb des einzelnen Erregertyps als auch der einzelnen Typen untereinander. Dabei wies der Typus humanus die geringste und der Typus gallinaceus die stärkste Chemoresistenz auf, während der Typus bovinus eine Mittelstellung einnahm. Dagegen sieht H e i c k e n (17) zwischen humanen und bovinen Tuberkulosestämmen keine größeren Resistenzabweichungen, zumindest keine beachtlicheren als sie innerhalb des gleichen Typs die verschiedenen Stämme an sich aufweisen.

Wegen der Gefährlichkeit des Arbeitens mit pathogenen Tuberkelbakterien für den Desinfektionsmittelprüfer wird vielfach auch die Forderung gestellt, das *Mycobacterium tuberculosis* durch andere in ihrer Chemoresistenz gleichwertige, aber ungefährlichere Keime zu ersetzen. Dabei war es naheliegend, in vergleichenden Desinfektionsversuchen die Widerstandsfähigkeit von apathogenen säurefesten Bakterien gegenüber gut tuberkulocid wirkenden Desinfektionsmitteln zu prüfen. So fand G r ü n (12) in Raumluftdesinfektionsversuchen mit Triäthylenglykol, daß apathogene Keime TAG-resistenter sind als pathogene. Dagegen kam D e w a l d (7) bei der Klärung der Frage, ob apathogene Mycobakterien als Testkeime für Tuberkelbakterien verwendet werden könnten, zu anderen Ergebnissen. Im Suspensionsversuch wurden 9 von 11 getesteten Stämmen von einer 3%igen Formaldehydlösung bereits um eine Versuchszeit früher (= 30 Minuten) abgetötet. Die übrigen zwei Stämme zeigten die gleichen Abtötungszeiten wie bovine Tuberkelbakterien (= 60 Minuten), so daß nach Ansicht des Autors die beiden Stämme eventuell als Testkeime zu Desinfektionsmittelprüfungen herangezogen werden könnten.

Da grampositive Kokken in ihrer Chemoresistenz den Tuberkelbakterien sehr nahe stehen und zudem leicht und schnell züchtbar sind, sahen sich manche Autoren veranlaßt, dieselben als Testkeime vorzuschlagen. P o t t e r (36) konnte zeigen, daß in vitro die TAG-Empfindlichkeit des *Mycobacterium tuberculosis*, *variatio bovis* etwa gleich der der grampositiven Kokken ist. Auch R o l l e und M a y r (39) sowie L a n g e n s c h e i d t (28) fanden bei der Prüfung von Koniferenölen gegenüber Mikrokokken und Tuberkelbakte-

rien keine wesentlichen Unterschiede. In Versuchen von T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48) wichen jedoch die Ergebnisse bei der vergleichenden Prüfung beider Keimarten etwas ab. Die Resultate bei *Mircococcus aureus* waren im Keimträger- und Suspensionsversuch um eine Versuchszeit besser als bei *Mycobacterium tuberculosis*.

3. Desinfektionsmittel

Die Zahl der anwendbaren Desinfektionsmittel ist trotz der großen Auswahl der zur Verfügung stehenden Präparate nach H e i c k e n (19), B e l l e r und L a n g e n s c h e i d t (2) sehr beschränkt. Die Forderungen, die an ein Desinfektionsmittel unter Praxisverhältnissen gestellt werden, bringen es mit sich, daß eine Reihe von guten Präparaten für die praktische Desinfektion ausfallen. Von allen Autoren, die sich mit diesem Problem beschäftigt haben, wird als primäre Forderung eine gut baktericide Wirkung innerhalb kurzer Zeit angesehen. H o l z (20), B e l l e r und L a n g e n s c h e i d t (2) verlangen von einem guten Desinfektionsmittel weiterhin, daß es neben seiner Ungiftigkeit reizlos gegenüber Mensch und Tier und unschädlich gegenüber den zu desinfizierenden Gegenständen ist. Von ausschlaggebender Bedeutung ist bei einer Großdesinfektion ferner die Preiswürdigkeit des Präparates.

Die in der Desinfektionsanweisung des Viehseuchengesetzes vom 26.6.1909 vorgeschriebenen Desinfektionsmittel haben sich gegenüber den säure- und alkaliresistenten *Mycobakterien* größtenteils als unwirksam oder unzulänglich erwiesen. Für eine gründliche Desinfektion tuberkulös verseuchter Rinderstallungen ist daher in den letzten Jahren immer wieder ein in seiner baktericiden Wirkung bewährtes und toxikologisch unbedenkliches Desinfektionsmittel gefordert worden. Entsprechend dem Angebot der auf dem Markt erschienenen neuen Präparate zur Tuberkulosedesinfektion haben sich viele Autoren in den vergangenen Jahren in Baktericidieversuchen mit der Frage ihrer Verwendbarkeit zur praktischen Stalldesinfektion beschäftigt. Über die Wirkung einiger älter und neuer Desinfektionsmittel gegenüber Tuberkelbakterien soll im folgenden berichtet werden.

a) Natronlauge (NaOH)

Der Stalldesinfektion mit Natronlauge kommt heute in der Tuberkulosebekämpfung keinerlei Bedeutung mehr zu, nachdem sich herausgestellt hat, daß das

Mittel gegenüber säurefesten Bakterien nahezu wirkungslos ist. So konnten L o c k m a n n und U l l r i c h nach 24-stündiger Einwirkung höherprozentiger Natronlauge keine Abtötung von Tuberkelbakterien beobachten (zit. nach L o c k m a n n und H e i c k e n (30)). Auch S c h ä l l i - b a u m (41) kam zu dem gleichen Ergebnis. Erst bei Anwendung von 30%iger Natronlauge, die jedoch wirtschaftlich nicht tragbar ist, war nach einer Einwirkungszeit von 24 Stunden ein baktericider Effekt festzustellen.

b) Kalkmilch

Die Verwendung von Kalkmilch in Form der dünnen (5%ig) und der dicken Kalkmilch (33%ig), wie sie gesetzlich zur Desinfektion zugelassen ist, ist für die Entseuchung tuberkuloseverseuchter Rinderstallungen unbrauchbar. Kalk hat nach T r a u t w e i n (47) keine baktericide Wirkung und nur ein geringes Eindringungsvermögen.

S c h ä l l i b a u m (41) konnte nach einer 24-stündigen Einwirkung von dicker Kalkmilch noch voll virulente Tuberkelbakterien nachweisen. In umfangreichen Versuchsreihen von E i s e n m e n g e r (8), in denen er die Wirkung der 5%igen und 33%igen Kalkmilch auf Reinkulturen von Tuberkelbakterien aller drei Typen prüfte, war es selbst nach der längsten Einwirkungszeit von 64 Tagen nicht gelungen, alle Tuberkelbakterien weder im Suspensionsversuch noch bei Anwendung der Seidenfadenmethode abzutöten. B r e u - n i n g (6) fand 5%ige Kalkmilch, die während der Einwirkungszeit 20 Minuten lang auf 80 Grad erhitzt wurde, genau so wirkungslos wie erhitztes Wasser oder 3%ige Sodalösung.

c) Chlorverbindungen

Chlorabspaltende Mittel in Form von Chlorkalk oder Chloramin zeigten in Desinfektionsmittelprüfungen eine gute tuberkulocide Wirkung. So war nach Untersuchungen von E i s e n m e n g e r (8), B r e u n i n g (6), T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) 5%ige Chlorkalkmilch imstande, Tuberkelbakterien innerhalb von 30 - 60 Minuten abzutöten.

In der Humanmedizin werden Chlorverbindungen häufig zu Desinfektionszwecken, namentlich auch zur Desinfektion von tuberkulosehaltigem Sputum verwendet. Ihre Verwendbarkeit in der Veterinärmedizin ist jedoch umstritten. So sind nach H e i c k e n (17) Chloramin oder Chlorkalk zur Entkeimung infektiöser Ausscheidungen nur bedingt tauglich, obgleich diese Mittel gegen freiliegende Keime sehr energisch wirken. Ihre praktische Verwendung hängt vom

Chlorbindungsvermögen infektiöser Ausscheidungen ab. Da die Fäkalien ein sehr starkes Chlorbindungsvermögen besitzen, wird der Gehalt an aktivem Chlor schnell erschöpft, so daß die Wirkung auf die Krankheitserreger ausbleiben kann.

d) Kresol- und phenolhaltige Mittel

In allen Baktericidieversuchen, die sich mit der Prüfung von wässrigen phenol- und seifenhaltigen Kresollösungen beschäftigten, wird die gute tuberculocide Wirkung dieser Präparate hervorgehoben. Nach den Untersuchungen von M e y n und S c h l i e s s e r (33) entsprechen diese Mittel in ihrem baktericiden Effekt dem 3%igen Formaldehyd und dem QE 383 c (Sigambol). T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) kamen zu den gleichen Ergebnissen. In ihren Keimträgerversuchen zeigte sich 2,5%iges Kresolwasser und 3%ige Karbolsäurelösung imstande, Tuberkelbakterien in wässriger Suspension in etwa 30 bzw. 60 Minuten, in milchiger Suspension in 60 bzw. 120 Minuten abzutöten. E i s e n m e n g e r (7) und B r e u n i n g (6) sprechen vor allem den Handelspräparaten "Sagrotan" und "Baktol" eine gute Desinfektionswirkung zu. Nach den von E i s e n m e n g e r (7) in Keimträgerversuchen ermittelten Ergebnissen tötete 2,5%ige Sagrotanlösung in 60 Minuten Tuberkelbakterien aller Typen ab. B r e u n i n g (6) fand unter erschwerten Bedingungen, wie sie bei der praktischen Desinfektion angetroffen werden, Baktol und Sagrotan innerhalb von 3 - 6 Stunden voll baktericid.

Für die praktische Stalldesinfektion empfiehlt H e i c k e n (17) die stark alkalisch reagierenden Handelspräparate "Alkalysol" und "TB-Bacillol". Infolge ihres freien Gehalts an Alkali üben sie eine gewisse auflockernde Wirkung auf angetrocknete Sputumreste und Kotschichten aus. H e i c k e n u.a. sehen jedoch besondere nachteilige Eigenschaften bei sämtlichen Kresolpräparaten in dem lange Zeit anhaftenden Kresolgeruch, der unter Umständen in Milchviehställen die Qualität der Milch beeinträchtigt und empfindliche Tiere zur Verweigerung der Nahrungsaufnahme veranlassen kann.

e) Formaldehyd (HCHO)

Formaldehyd ist ein stechend riechendes Gas, das in Form einer 40%igen wässrigen Lösung als Formalin im Handel ist. Seine wässrigen Lösungen finden zur Desinfektion Anwendung. Die Wirkung des Formaldehyds gegenüber der Bakterienzelle besteht nach H a i l e r (16) darin, daß er chemisch an die lebenswichtigen Eiweißbestandteile gebunden wird, diese außer Funktion setzt und somit den Tod des Mikroorganismus bedingt. Nach Ansicht des Au-

tors ist jedoch der Vorgang der chemischen Bindung innerhalb einer bestimmten Zeit reversibel. Wahrscheinlich tritt zunächst nur eine OH-Gruppe des als Methylenglykols $\text{CH}_2(\text{OH})_2$ reagierenden Formaldehyds mit den Amidgruppen des Eiweißes in Verbindung. Bei der zeitlichen Beschränkung der Formaldehydbindung sieht H a i l e r eine Gefahr, wenn die Keime bald nach der Formaldehydbehandlung Gelegenheit zur Infektion haben.

Die gute baktericide Wirkung des Formaldehyds in seinen wässerigen Verdünnungen gegenüber den meisten in der Natur vorkommenden Keimen wird in einer Reihe von Desinfektionsmittelprüfungen bestätigt. Nur die im Viehseuchengesetz vorgeschriebene 1%ige Formaldehydlösung hat sich bei der Tuberkulosedesinfektion im Stall als unzureichend erwiesen. Nach Untersuchungen von M e y n und S c h l i e s s e r (33) sowie T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48) konnten im Keimträger- und Suspensionsversuch nach einer Einwirkungszeit von 120 Minuten noch lebende Tuberkelbakterien nachgewiesen werden.

Die 3%ige Formaldehydlösung wird infolge ihrer anerkannt gut baktericiden Wirkung von vielen Autoren (H o l z (20), M e y n und S c h l i e s s e r (33), R o l l e und M a y e r (38), T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48)) im Rahmen von Desinfektionsmittelprüfungen für die Beurteilung der Baktericidie eines Präparates zum Vergleich herangezogen. T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) fanden bei Verwendung von 3%iger Formaldehydlösung im Keimträgerversuch in wasserhaltiger Suspension eine Abtötungszeit von 30 Minuten, in milchiger Suspension eine Abtötungszeit von 60 Minuten. M e y n und S c h l i e s s e r (33) konnten ebenfalls im Suspensionsversuch mit der gleichen Konzentration dieses Präparates nach einer Einwirkungszeit von 60 Minuten einen baktericiden Effekt an bovinen Tuberkelbakterien beobachten. Zu dem gleichen Ergebnis kam D e w a l d (7) in seinen vergleichenden Desinfektionsversuchen mit Formalin an pathogenen und apathogenen Mycobakterien.

S c h ä l l i b a u m (41) prüfte Formalinspray und Formalin-Aerosol unter Stallbedingungen an tuberkulösem Sputum und Kotanstrichen. Dabei zeigte sich, daß schon nach einer 1-stündigen Einwirkungszeit von 3,5%igem Formalinspray sämtliche in den Ausscheidungsprodukten befindlichen Tuberkelbakterien nicht mehr vermehrungsfähig waren. Dagegen war Formalin-Aerosol selbst nach einer 24-stündigen Einwirkungszeit nicht imstande, tuberkulocid zu wirken. Nach Ansicht des Autors kann ein Stall nach 24 Stunden Einwirkungszeit von 3,5%igem Formalinspray als desinfiziert betrachtet werden.

K r i e g l s t e i n e r (27) schlägt für eine wirksame Desinfektion ver-seuchter Rinderstallungen eine 3-5%ige Formaldehyd-Sprühd desinfektion mit einer 6-stündigen Desinfektionsmitteleinwirkung vor. Der Autor fand zwar in seinen Sprühd desinfektionsversuchen an Mauerwerk und Holzbrettchen, an denen Keimaufschwemmungen im Eidotter und sterilem Rinderkot aufgetragen waren, bereits eine 2-stündige Einwirkungszeit von 3-5%iger Formaldehydlösung für ausrei-chend, sieht jedoch in der längeren Einwirkungszeit eine Sicherheitsfrist für die praktische Stalldesinfektion. Als besonders unangenehm bezeichnet er die Toxizität des Formaldehyds. Er empfiehlt deshalb das Präparat nur bei der Schlußdesinfektion zu verwenden, gegebenenfalls unter Neutralisierung mittels Ammoniak.

H e i c k e n (17) bezeichnet die wässerigen Formaldehydlösungen unter den Bedingungen, die an ein Desinfektionsmittel zu stellen sind, als am besten. Nach seiner Ansicht wird ihre Wirkung kaum von dem Milieu, in dem sich die Krankheitserreger befinden, beeinflußt. Allerdings muß in schlecht gelüfte-ten Ställen mit dem Vorhandensein von Ammoniak gerechnet werden, der mit dem Formaldehyd unter Bildung des baktericid unwirksamen Hexamethylentetramins reagiert. Der Autor empfiehlt deshalb eine vorausgehende gründliche Reini-gung unter Verwendung heißer Sodalösung, wodurch die Gefahr der Neutralisa-tion wegen der Flüchtigkeit des Ammoniaks schwindet. Einen Nachteil sieht er in der reizenden Wirkung des Formaldehyds auf die Schleimhäute der Augen und Atemwege während der Desinfektion.

f) Glykole

Glykole sind zweiwertige Alkohole, die zwei Hydroxylgruppen an verschiedene C-Atome gebunden haben. Sie finden vor allem in Aerosolform zur Raumluft-desinfektion in der Humanmedizin Anwendung. Der Wirkungsmechanismus von Gly-kolen gegenüber den in der Luft suspendierten Keimen ist noch nicht geklärt. K l i e w e und v. W a s i e l e w s k i (26) nehmen an, daß der Abtötungs-effekt einerseits auf einem Austrocknungsvorgang der Luftkeime beruht, da Glykole sehr stark hygroskopisch sind, andererseits durch eine Abspaltung von Formaldehyd zustande kommt (in ihren Versuchen zeigte Formaldehyddampf diesel-be Wirkung wie die entsprechende Konzentration Glykoldampf). Auch G r ü n (11) kommt zu dem Schluß, daß eine Bildung von Formaldehyd aus Triäthylenglykol wahrscheinlich ist und die Wirkung auf der Formaldehydkomponente beruht. Nach T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48) ist diese Ansicht über den Wirkungsmechanismus chemisch nicht zu stützen.

G r ü n (11) bezeichnet die Auffindung der Glykole zur Befreiung der Raum-

luft von pathogenen Mikroorganismen als neuen Weg in der Chemoprophylaxe infektiöser Prozesse. Amerikanische Forscher, vor allem R o b e r t s o n und seine Mitarbeiter entdeckten eine Reihe von Glykolverbindungen, insbesondere Äthylenglykol, Propylenglykol, Di- und Triäthylenglykol, die in der Lage sind, in der Luft schwebende feuchte Keime abzutöten (zit. nach G r ü n (11)). G r ü n und S c h o l t i s (13) fanden im Triäthylenglykol (TAG) eine Verbindung, die in Dampfform noch in einer Konzentration von 1:250 Millionen in der Lage ist, innerhalb von 15 Minuten einen Raum keimfrei zu machen. K l i e w e und v. W a s i e l e w s k i (26) bestätigen ebenfalls, daß das Triäthylenglykol in Dampf- oder Nebelform eine gute baktericide Wirkung auf pathogene Keime besitzt. So waren nach ihren Untersuchungen TAG-Dampf-Luftgemische in einer Konzentration von 5 Gamma pro Liter Luft (1:200 Millionen) imstande, hämolytische Streptokokken innerhalb von 15 Minuten abzutöten. G r ü n (11) untersuchte auf Grund der hohen Baktericidie der Glykole in der Raumluft ihre keimtötende Kraft auch in vitro (Reagensglasversuch), um Parallelen zu finden, die auf ihre Wirkung in der Luft bezogen werden könnten. Dabei erwies sich von den untersuchten Glykolen der Monomethyldiäthylenglykol am wirksamsten. Der baktericide Effekt des TAG war dabei etwas schwächer als der der anderen Glykole. Tuberkelbakterien vom Typus humanus wurden von einer relativ hohen TAG-Konzentration (75%) bereits nach 10 Minuten abgetötet. Schwächere Konzentrationen ergaben entsprechend längere Abtötungszeiten.

Bei der Testung von 28 Glykolen und Kombinationen derselben fanden T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48) die Präparate "QE 383c" (Sigambol A) und "VE 455" (Sigambol B) hinsichtlich ihrer Baktericidie und praktischen Verwendbarkeit für die Veterinärmedizin am besten geeignet. Während das VE 455 als gutes Raumluftdesinfektionsmittel gegenüber den in der Luft schwebenden saprophytären Keimen einschließlich der Tuberkelbakterien in einer Konzentration von 1 ccm/cbm eine gute baktericide Wirkung entfalten soll, wird das QE 383c zur Sprühdeseinfektion in der Tuberkulosebekämpfung empfohlen.

QE 383c (Sigambol A) enthält Äthylenglykol als Lösungsträger, einen aliphatischen, verzweigten mehrwertigen Alkohol als hauptsächliche baktericide Komponente, einen Emulgator zur Stabilisierung der Lösung und ein nicht ionogenes Netzmittel zur Steigerung der Tiefenwirkung. Das Aussehen ist wasserklar, gelblichbraun im Konzentrat bzw. leicht gelblich in der Gebrauchsverdünnung 1+9. Das Konzentrat ist beständig. Die in der Gebrauchslösung bei Temperaturen über 22 Grad auftretende milchige Trübung klärt sich bei Abkühlung unter den erwähnten Umkehrpunkt. Die baktericide Wirkung wird durch diesen reversib-

len Vorgang nicht beeinträchtigt (zit. nach T r a u t w e i n und Mitarbeiter (48)). Dieselben Autoren fanden das QE 383c in der Gebrauchsverdünnung 1+9 (1 Teil QE 383c + 9 Teile H_2O) in seinen baktericiden Eigenschaften der 3%igen Formaldehydlösung ebenbürtig. Die von ihnen im Suspensions- und Keimträgerversuch ermittelten Ergebnisse ergaben im Kultur- und Tierversuch einen Abtötungseffekt innerhalb von 30 - 60 Minuten.

Auch M e y n und S c h l i e s s e r (33) sprechen dem QE 383c eine gleichgute Wirkung wie dem 3%igen Formaldehyd zu. Sie untersuchten im Suspensionsversuch eine Vorstufe des jetzt im Handel befindlichen Sigambols A in verschiedenen Gebrauchsverdünnungen. Das Präparat tötete in einer Konzentration von 1 Teil QE 383c + 6 Teile H_2O Tuberkelbakterien im Kulturversuch nach 60 Minuten und im Tierversuch nach 120 Minuten ab. Bei Anwendung höherer Konzentrationen zeigte QE 383c eine stärkere baktericide Wirkung als die 3%ige Formaldehydlösung.

S e e l e m a n n und B u s c h k i e l (45) fanden ebenfalls in Flächen-desinfektionsversuchen mit Sigambol A Ergebnisse, welche den mit 3%iger Formaldehydlösung gewonnenen entsprachen. QE 383c hat gegenüber anderen gleich guten Desinfektionsmitteln den Vorzug, daß es fast geruchlos, reizlos und ungiftig ist. Das Präparat, das im pharmakologischen Institut der Universität Münster hinsichtlich der Wirkung auf den Organismus von Versuchstieren an 206 Ratten, 55 Meerschweinchen, 10 Mäusen, 6 Kaninchen und 1 Hund geprüft wurde, erwies sich toxikologisch als unbedenklich (zit. nach T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48)).

g) Koniferenöle

In den vergangenen Jahren haben sich viele Autoren mit der Prüfung der im Handel erschienen Koniferenöle, die nach Angaben der Herstellerfirmen eine gute tuberkulocide Wirkung entfalten sollen, befaßt. Die verschiedenen Präparate zeigten dabei hinsichtlich ihrer Baktericidie und Toxizität mitunter sehr unterschiedliche Versuchsergebnisse. Koniferenöle sind ätherische Öle, Destillationsprodukte von Nadelhölzern, deren chemische Zusammensetzung aber nicht weiter bekannt ist. Nach W i t z e n h a u s e n und G u s t (50) enthalten sie als baktericide Komponente hauptsächlich Phenole.

In die Reihe der Koniferenöle, die in Desinfektionsmittelprüfungen getestet wurden, gehört vor allem das Phagogene H.N.C. absolu N 304, ein französisches ätherisches Öl. Es ist nach W e r n e r (49) eine stark aromatisch riechende gelbliche ölige Flüssigkeit. R o l l e und H a u s m a n n (37),

die sich erstmals eingehender mit den Koniferenölen beschäftigten, stellten zunächst Untersuchungen über die keimabtötende Wirkung zweier Präparate, des französischen Öles Phagogene und eines schwedischen Leichtöls an. Dabei fanden sie, daß die Öle eine selektive Wirkung auf Tuberkelbakterien besitzen, wobei vor allem die flüchtigen Stoffe eine besondere Affinität zu den Lipoidstoffen des *Mycobacterium tuberculosis* haben, während die weniger flüchtigen auch auf andere Bakterien wirken. Da die Öle mit Wasser nicht mischbar sind, konnten sie auf feuchten Keimträgern keine oder nur eine stark herabgesetzte oberflächliche Wirkung erzielen.

R o l l e und M a y r (39) fanden bei der Prüfung der flüchtigen Bestandteile des Phagogene einen Abtötungseffekt an *Mycobacterium tuberculosis* und *Micrococcus aureus* nach einer Einwirkungszeit von 60 Minuten. Bei Vernebelung des Präparates war eine Raumkonzentration von 3 ccm/cbm imstande, die Vermehrung aller Keime in allen Proben zu verhindern. Bei der angewendeten Konzentration war der Raum jedoch derart mit Ölpartikelchen gesättigt, daß die Schleimhäute der Augen, Nasen und Bronchien stark gereizt wurden. Auch L a n g e n s c h e i d t (28) konnte mit Phagogene bei Verwendung als Aerosol im Objektträgerkulturverfahren, in dem er die gleichen Keime wie R o l l e und M a y r (39) prüfte, bereits nach 30 Minuten eine baktericide Wirkung feststellen.

Noch bessere Versuchsergebnisse erzielte W e r n e r (49). Er fand bei direkter Einwirkung des Präparats gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacterium coli* und *Micrococcus aureus* im Hohlsliffobjektträgerverfahren bereits nach 5 Minuten, im Sprayverfahren nach 15 Minuten Einwirkungszeit einen Abtötungseffekt. Dagegen äußern sich G u s t und W i t z e n h a u s e n (14) gegenüber dem Phagogene sehr skeptisch. Sie sprechen dem Präparat keine praktisch genügende Wirkung in der Flächendesinfektion zu. In Sprühdeseinfektionsversuchen konnten sie selbst bei 5-facher Erhöhung der von der Herstellerfirma angegebenen Menge keine ausreichende konstante Wirkung erzielen. In einer weiteren Arbeit weisen W i t z e n h a u s e n und G u s t (50) vor allem auf die unterschiedliche Wirkung des Phagogene auf feuchte und trockene Keimträger hin. Gegenüber verschiedenen Keimen, die an trockenen Flächen hafteten, konnte eine ausreichende Wirkung nicht festgestellt werden, während bei Keimen auf wasserhaltiger Unterlage, wie z.B. auf Nährböden, infolge der Wasserlöslichkeit des Präparates gute Erfolge ermittelt wurden. Die Autoren machen vor allem auch Bedenken hinsichtlich der Toxizität des Präparates geltend. So litten die Untersucher entsprechend den Erfahrungen von R o l l e und M a y r (39) in der Phagogene-Atmosphäre an Konjunktividen, Nieß- und

Hustenreiz, sowie Müdigkeit und Benommenheit. Wurden die Tiere längere Zeit dem Desinfektionsmittel ausgesetzt, so zeigten sich bei ihnen Darmentzündungen und Leberschädigungen.

Ein weiteres Präparat, das zu den ätherischen Ölen zählt, ist das Coniferol. H o l z (21) sprach ihm eine gute desinfizierende Wirkung zu und bezeichnete es als eine Neuerung in der Desinfektionspraxis. Nach seinen Angaben wurde der Nachteil des Coniferol V, der darin besteht, daß es wasserunlöslich ist und somit auf starke wasserhaltige Keimträger im Stall schlechter wirkt als auf trockene, durch die Entwicklung des Coniferol M behoben. Dasselbe Präparat wird in einer Verdünnung von 1:10 zur Sprühdesinfektion empfohlen. H o l z schlägt zur Schlußdesinfektion ein kombiniertes Spray-Aerosol-Verfahren mit dem Coniferol M und V vor, während er als laufende Desinfektion zur Verhütung aerogener Infektionen die Luftentkeimung durch Aerolisierung mit Coniferol V in regelrechten Abständen für ausreichend findet.

R o l l e und M a y e r (38) sprachen dem Coniferol V ebenfalls gute desinfizierende Eigenschaften zu. Sie prüften das Präparat durch direkte Besprayung trockener und feuchter Keimträger, die teils freihängend, teils auf Objektträgern angebracht waren, gegenüber *Micrococcus aureus* und *Bacterium coli*. Weiterhin untersuchten sie das Verhalten der Keime an möglichst naturgetreuen Modellen, wozu sie Bolus alba und Torfmull verwendeten. Die Autoren kamen anhand ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, daß das Coniferol V die gleiche baktericide Wirkung wie eine 3%ige Formaldehydlösung besitzt. Den Aufenthalt der Tiere im Stall während der Desinfektion halten sie durchaus für vertretbar, da nach ihren Erfahrungen das Coniferol eine geringere Toxizität als das Phagogene hat.

S e e l e m a n n und B ö r g e r (43) dagegen beurteilen die Verwendung des Coniferols zur Desinfektion mit Zurückhaltung. Sie bestätigen zwar die gute desinfizierende Wirkung der flüchtigen Stoffe des Präparates, fanden aber bei Verwendung als Aerosol oder als Spray keine ausreichende Wirkung.

S c h m i d t (42), der zwei verschiedene Coniferenöle und ein schwedisches Leichtöl in der Versuchsanordnung nach R o l l e und H a u s m a n n (37) prüfte, konnte der von diesen Autoren vertretenen Ansicht, daß vor allem die flüchtigen Stoffe der Öle tuberkulocid wirken, nicht beistimmen. Während bei der unmittelbaren Einwirkung der Coniferenöle auf Tuberkelbakterien dieselben bereits nach 10 Minuten nicht mehr vermehrungsfähig waren, erwiesen sich die flüchtigen Substanzen der Öle als nicht baktericid. Auch die von R o l l e und H a u s m a n n (37) gemachte Feststellung, daß die Einwirkung der flüch-

tigen Bestandteile der Öle auf Tuberkelbakterien in vivo (Meerschweinchen) einen gewissen therapeutischen Effekt erkennen ließen, konnte S c h m i d t nicht bestätigen. Dazu schreibt der Autor: "Da die Präparate Phenole, Terpene, Aldehyde und Ketone, also cancerogene Stoffe enthalten, muß erst nachgewiesen werden, daß diese Präparate auch nach wiederholter und langdauernder Einatmung keine Gesundheitsstörungen hervorrufen".

Als ein ebenfalls gut tuberkulocid wirksames und toxikologisch unbedenkliches ätherisches Öl bezeichnet L a n g e n s c h e i d t (29) das Euphagol, das als Nebenprodukt bei der Coniferenölherstellung gewonnen wird. In Laboratoriumsversuchen konnte er bei Anwendung des Präparates als Aerosol bereits nach 60 Minuten einen 100%igen Abtötungseffekt an seinen Testplättchen beobachten. Beim praktischen Desinfektionsversuch im Tierstall ließ das Euphagol bei einer Konzentration von 3 ccm/cbm und 2-stündiger Einwirkungszeit als Aerosol gute Versuchsergebnisse erkennen.

S e e l e m a n n und B ö r g e r (44) kommen zu ganz anderen Ergebnissen. Sie fanden ein Euphagol-Aerosol in einer Konzentration von 3 ccm/cbm Raum nicht imstande, Tuberkelbakterien abzutöten. Dagegen zeigte Euphagol in der Anwendung als Spray gute tuberkulocide Eigenschaften.

Über ein weiteres neues Tuberkulosedesinfektionsmittel "Rhoniferol" berichtet H o l z (22). In diesem Präparat ist angeblich die Wirkung der Coniferenöle durch Kombination mit Rhodanwasserstoffsäure gegenüber Tuberkelbakterien noch gesteigert. In seinen Versuchen fand H o l z Rhoniferol in einer Dosierung von 60 ccm/cbm Fläche gegenüber feuchten Keimträgern bei Anwendung der Sprühdesinfektion gleich gut oder besser wirksam als 3%iges und 7,5%iges Formalin.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methode

a) Keimmateriäl

Für die vergleichenden Desinfektionsversuche standen 8 Paratuberkulosestämmе sowie 2 humane, 3 bovine und 2 aviäre Tuberkelbakterienstämmе zur Verfügung. Die Herkunft dieser in einer Sammlung des Tierhygienischen Instituts der Universität München befindlichen Stämmе war nicht in allen Fällen bekannt. Es handelte sich um ältere Laboratoriumskulturen, die auf Petragnaninährböden mit Glycerinzusatz gezüchtet wurden und bereits nach 2-3 Wochen ein üppiges Wachstum erkennen ließen. Für die Desinfektionsversuche wurden ca. 6 Wochen alte und zum Vergleich auch einige 3 Wochen alte Kulturen verwendet.

Die einzelnen Stämmе wurden unter folgender Bezeichnung geführt:

Mycobacterium paratuberculosis, Stamm II

"	"	"	III
"	"	"	IV
"	"	"	V
"	"	"	3384
"	"	"	3390
"	"	"	C 300
"	"	"	C 286

Mycobacterium tuberculosis, variatio hominis, Stamm 90 A

"	"	"	"	99 A
"	"	variatio bovis,	"	Ravenel
"	"	"	"	1b/I
"	"	"	"	339/I

Mycobacterium avium, Stamm Gall Da 38

"	"	Gall W
---	---	--------

b) Desinfektionsmittel

Als Desinfektionsmittel kamen in ihrer baktericiden Wirkung erprobte Präparate in Form wässriger Lösungen des Formalins 40%ig und des Sigambol A zur

Verwendung. In einer ersten Versuchsreihe wurden folgende Konzentrationen zur Prüfung herangezogen:

1%ige Formaldehydlösung (2,5 Teile Formalin 40%ig + 97,5 Teile H_2O)
 3%ige Formaldehydlösung (7,5 Teile Formalin 40%ig + 92,5 Teile H_2O)
 Sigambol 10%ig (1 Teil Sigambol + 9 Teile H_2O)

In einer zweiten Versuchsserie, die den baktericiden Effekt höherer Konzentrationen derselben Präparate ermitteln sollte, wurden folgende Verdünnungen angewandt:

3%ige Formaldehydlösung	(7,5 Teile Formalin 40%ig + 92,5 Teile H_2O)
4%ige	" (10 " " + 90 " " H_2O)
5%ige	" (12,5 " " + 87,5 " " H_2O)
6%ige	" (15 " " + 85 " " H_2O)
Sigambol 10%ig	(1 Teil Sigambol + 9 Teile H_2O)
" 20%ig	(2 Teile " + 8 " " H_2O)
" 30%ig	(3 " " + 7 " " H_2O)
" 40%ig	(4 " " + 6 " " H_2O)
" 50%ig	(5 " " + 5 " " H_2O)

Als Kontrollen dienten bei beiden Versuchen entsprechende Mengen physiologischer Kochsalzlösung.

Die Gebrauchsverdünnungen der Desinfektionsmittel wurden mit gewöhnlichem Leitungswasser hergestellt.

Da durch die spätere Zugabe der Keimsuspension eine weitere Verdünnung der Desinfektionsmittel erfolgt, wurde die Anfangsverdünnung entsprechend stärker eingestellt. Wenn z.B. ein Desinfektionsmittel in 1%iger Lösung auf seine baktericide Wirkung geprüft werden sollte, mußte bei Zugabe von 1 ccm Keimsuspension zu 10 ccm Desinfektionsflüssigkeit von einer 1,1%igen Lösung ausgegangen werden.

c) Methode

Die Ausführung der Versuche erfolgte nach der von M e y n und S c h l i e s e r (33) angegebenen Suspensionsmethode. Die Autoren empfehlen mit relativ hohen Keimmengen zu arbeiten, da die Bakteriendichte der verwendeten Ausgangssuspension innerhalb gewisser Grenzen eine ausschlaggebende Rolle für das Ergebnis spielt und bei Baktericidieprüfungen erst ein negativer Kulturversuch eine tatsächliche Garantie bietet, daß alle Bakterien abgetötet worden sind.

Die Keimmenge wurde deshalb auf 20 mg/ccm Bakteriensuspension eingestellt.

Das benötigte Keimmaterial wurde mittels einer Öse dem Kulturrasen entnommen und in ein dickwandiges Zentrifugierglas gebracht. Die darin befindliche Keimmenge wurde auf einer Mikrowaage (Sartorius Selecta Standard) abgewogen und in der 50-fachen Menge steriler physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Die Aufschwemmung wurde mindestens 10 Minuten lang bis zur Herstellung einer homogenen Keimsuspension mit Glasstäben verrieben, 1 ccm dieser Suspension, die einem Kulturmaterial von 20 mg entsprach, wurde dann in ein mit einem Gummistopfen verschließbares Röhrchen pipettiert, das 10 ccm der Desinfektionslösung enthielt. Durch öfteres Schütteln bzw. Umkippen des verschlossenen Röhrchens wurde für eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien im Desinfektionsmittel gesorgt. Nach einer jeweiligen Einwirkungszeit von 15, 30, 60 und 120 Minuten wurde unmittelbar nach nochmaligem Aufschütteln 1,1 ccm der Desinfektionsmittel-Bakterien-Suspension (= 2 mg Kulturmaterial) in ein Zentrifugierglas gegeben, das 15 ccm steriles H₂O enthielt. Das Röhrchen wurde mit einem Kork verschlossen, mehrmals geschüttelt und blieb dann 10 Minuten lang stehen. Anschließend wurde es 20 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde danach bis auf 2 ccm abgesaugt und das Sediment in den verbliebenen 2 ccm sterilem Wasser gut aufgeschüttelt. Je eine Öse wurde auf zwei feste Petagnani-Nährböden gebracht und gleichmäßig verrieben. Sämtliche Nährböden wurden 8 Wochen lang bei 38 Grad bebrütet. Die Auswertung des Kulturversuches erfolgte in wöchentlichen Abständen von der 2. bis zur 8. Woche. Das Wachstum auf den Nährböden wurde folgendermaßen beurteilt:

- ++++ = dichter Kulturrasen, wie auf dem Kontrollröhrchen, keine Hemmung des Wachstums
- +++ = lockerer Kulturrasen, über 50 Einzelkolonien, schwache Hemmung des Wachstums
- ++ = 11 - 50 Einzelkolonien, mittelgradige Hemmung des Wachstums
- +
- = 1 - 10 Einzelkolonien, starke Hemmung des Wachstums.
- = keine sichtbaren Kolonien, vollständige Hemmung des Wachstums.

B. Versuchsergebnisse

1. Suspensionsversuche mit 1%iger und 3%iger Formaldehydlösung und der Sigambelllösung (1+9)

In der Tabelle I sind die Mittelwerte der Versuche, die bei jedem Stamm zweimal durchgeführt wurden, zusammengefaßt.

T a b e l l e I:

Kulturelles Verhalten der im Suspensionsversuch getesteten Stämme bei der Auswertung nach der 8. Woche.

Stämme	Formaldehyd 1%ig				Formaldehyd 3%ig				Sigambol (1+9)				NaCl-Kontrolle	
	Einwirkungszeiten in Minuten				Einwirkungszeiten in Minuten				Einwirkungszeiten in Minuten					
	15	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120		
Stamm II	++++	++++	++++	++	++++	++++	-	-	++++	++++	++	-	++++	
Stamm III	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Stamm IV	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Stamm V	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Stamm 3384	++++	++++	++++	++	++++	++++	+	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Stamm 3390	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	+++	++++	
Stamm C. 286	++++	++++	++++	+++	++++	++++	+	-	++++	++++	++++	+++	++++	
Stamm C. 300	++++	++++	++++	++	++++	++++	+	-	++++	++++	++++	-	++++	
Var. hominis Stamm 90 A	++++	+++	-	-	+	-	-	-	++	+	-	-	++++	
Stamm 99 A	++++	++++	++	-	+++	++	-	-	++++	+++	++	-	++++	
Var. bovis Ravenel	+++	+++	+	-	++	-	-	-	+++	++	-	-	++++	
Stamm 16/I	++++	+++	++	-	+++	+	-	-	++++	+++	++	-	++++	
Stamm 339/I	++++	++++	+++	+	++++	++	-	-	++++	+++	++	-	++++	
Stamm Gall	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Da 38														
Stamm Gall W	++++	++++	++++	+++	++++	++++	-	-	++++	++++	++++	-	++++	

Die 1 %ige Formaldehydlösung erwies sich gegenüber den 8 Stämmen des *Mycobacterium paratuberculosis* und den 2 Stämmen des *Mycobacterium avium* nach 120 Minuten Einwirkungszeit kaum als baktericid. Dagegen tötete sie humane und bovine Stämme nach 120 Minuten ab. Eine Ausnahme machte der humane Stamm 90 A, der bereits nach 60 Minuten Einwirkungszeit kein Wachstum mehr auf Kultur zeigte, sowie der bovine Stamm 339/I, dessen Abtötungseffekt über 120 Minuten lag.

Die 3 %ige Formaldehydlösung tötete 7 von 8 getesteten Paratuberkulosestämmen sowie den Geflügelstamm Gall Da 38 nach 120 Minuten ab. Der Paratuberkulosestamm II und der Geflügelstamm Gall W zeigten sich bereits nach 60 Minuten Einwirkungszeit von 3 %iger Formaldehydlösung nicht mehr vermehrungsfähig. Der gleiche Abtötungseffekt von 60 Minuten trat bei dem humanen Stamm 99 A und den beiden bovinen Stämmen Ib/I und 339/I auf. Der humane Stamm 90 A und der bovine Stamm Ravenel wurden bereits nach 30 Minuten abgetötet.

Beim Sigambol (1+9) fielen die Untersuchungsergebnisse fast durchwegs um eine Versuchszeit schlechter aus als bei der 3 %igen Formaldehydlösung. Eine Ausnahme machte der Stamm C 300 des *Mycobacterium paratuberculosis*, dessen Wachstum nach 120 Minuten Einwirkungszeit des Präparates bereits vollständig gehemmt wurde, was der Wirkung der 3 %igen Formaldehydlösung entsprach. Stamm II wurde zwar im Vergleich zu der 1 %igen Formaldehydlösung um eine Versuchszeit früher abgetötet, zeigte aber neben dem Stamm C 300 eine wesentlich geringere Resistenz gegenüber Sigambol als die übrigen 6 Paratuberkulosestämmen.

2. Suspensionsversuche mit höherprozentigen Formaldehyd- und Sigambollösungen an aviären und Paratuberkulose-Stämmen

Aus der Tabelle I geht hervor, daß die Paratuberkulosestämmen in ihrer Chemo-resistenz den aviären Tuberkulosestämmen sehr nahe stehen. Da sie sich gegenüber den niedrigen Konzentrationen des Formaldehyds und gegenüber dem Sigambol (1+9) im Vergleich zu humanen und bovinen Stämmen als sehr widerstandsfähig erwiesen, wurde in einem weiteren Versuch ihre Resistenz gegenüber höheren Konzentrationen dieser Präparate geprüft. Dazu wurden der aviäre Stamm Gall Da 38 und die Paratuberkulosestämmen III und 3390 verwendet.

Tabelle II zeigt das kulturelle Verhalten dieser besonders resistenten Stämme des *Mycobacterium paratuberculosis* und des *Mycobacterium avium* gegenüber höheren Konzentrationen des Formaldehyds und des Sigambols A.

T a b e l l e II: Kulturelles Verhalten besonders resistenter Stämme des *Mycobacterium paratuberculosis* und des *Mycobacterium avium* bei Anwendung höherer Konzentrationen.

Desinfektionsmittel	Mycobacterium paratuberculosis										Mycobacterium avium			
	Stamm III					Stamm 3390					Stamm Gall Da 38			
	Einwirkungszeiten in Minuten					Einwirkungszeiten in Minuten					Einwirkungszeiten in Minuten			
	15	30	60	120		15	30	60	120		15	30	60	120
3%iger Formaldehyd	++++	++++	+	↓		++++	++++	+	-		++++	++++	+	-
4%iger Formaldehyd	++++	+++	-	-		++++	+++	-	-		++++	++	-	-
5%iger Formaldehyd	+++	+	-	-		+++	++	-	-		+++	+	-	-
6%iger Formaldehyd	+	-	-	-		+++	-	-	-		+++	-	-	-
Sigambol (1+9)	++++	++++	++++	+++		++++	++++	++++	+++		++++	++++	++++	++++
Sigambol (2+8)	++++	++++	+++	+		++++	+++	+++	-		++++	++++	+++	++
Sigambol (3+7)	++++	+++	+	-		++++	+++	+	-		++++	++++	+++	++
Sigambol (4+6)	+++	++	+	-		+++	++	-	-		++++	++++	++	-
Sigambol (5+5)	++	-	-	-		++	+	-	-		++++	++++	-	-
NaCl - Kontrolle	++++	++++	+++	+++		++++	+++	++++	++++		++++	++++	++++	++++

Die getesteten Paratuberkulosestämme III und 3390 und der aviäre Stamm Gall Da 38 ließen gegenüber den höherprozentigen Formaldehydlösungen hinsichtlich ihrer Abtötungszeiten keine Resistenzschwankungen erkennen. 3%ige Formaldehydlösung erwies sich wie in der Tabelle I nach 120 Minuten als voll baktericid. Bei 4%iger und 5%iger Formaldehydlösung lagen die Abtötungszeiten bei 60 Minuten. 6%ige Formaldehydlösung tötete die Keime bereits nach 30 Minuten ab.

Bei Anwendung höherer Konzentrationen von Sigambol zeigte dieses Präparat ebenfalls deutlich baktericide Eigenschaften. So war Sigambol (2+8) gegenüber dem Stamm 3390 im Vergleich zur 3%igen Formaldehydlösung ebenfalls nach 120 Minuten baktericid wirksam. In der gleichen Zeiteinheit vollzog sich der Abtötungseffekt an Stamm III bei Einwirkung von Sigambol (3+7) und Stamm Gall Da 38 bei Einwirkung von Sigambol (4+6).

Gegenüber den wässerigen Verdünnungen des Sigambols A war der aviäre Stamm Gall Da 38 am resistentesten. Die 2 Paratuberkulosestämme zeigten eine geringere Resistenz.

3. Die bakteriostatische Wirkung der Desinfektionsmittel auf das Wachstum der Kulturen

Da bei der wöchentlichen Prüfung des kulturellen Wachstums die mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollen bereits nach 14 Tagen einen dichten Kulturrasen erkennen ließen, soll in einer weiteren tabellarischen Übersicht gezeigt werden, wie sich die Hemmwirkung der Desinfektionsmittel auf das Wachstum auswirkte. Hierzu wurden der Paratuberkulosestamm 3390 und der aviäre Stamm Gall Da 38 verwendet.

In der Tabelle III sind die Ergebnisse der in 14-tägigen Abständen vorgenommenen Auswertung zusammengefaßt.

Nach 2-wöchiger Bebrütungsdauer der Kulturen zeigte sich im Vergleich zur NaCl-Kontrolle bei der 1%igen Formaldehydlösung und der Sigambollösung (1+9) bei einer Einwirkungszeit von 60 Minuten bereits eine gewisse hemmende Wirkung auf das Wachstum von Paratuberkelbakterien und Geflügeltuberkelbakterien. Bei den höheren Konzentrationen beider Desinfektionsmittel war die Hemmwirkung noch ausgeprägter; es konnte zum Teil überhaupt kein Wachstum beobachtet werden. Nach einem 4-wöchigen Verbleib der Kulturen im Brutschrank waren beim Sigambol in sämtlichen Konzentrationen Kolonien sichtbar, beim Formaldehyd in allen Konzentrationen mit Ausnahme der stärksten, der 6%igen Lösung. Nach einer weiteren 14-tägigen Bebrütung, also nach insgesamt 6 Wochen hatte die Zahl der sichtbaren Kolonien weiter zugenommen. Daraus geht hervor, daß eine endgültige Bewertung der baktericiden Wirkung von Tuberkulose-Desinfektionsmitteln im Kulturversuch frühestens nach 6 Wochen langer Bebrütung erfolgen darf. Die gleichzeitig vorhandene wachstumshemmende Wirkung kann einen baktericiden Effekt vortäuschen, so daß eine Ablesung der Kulturversuche zu einem früheren Zeitpunkt zwangsläufig zu falschen Ergebnissen führen muß. Selbst bei den nach der 6. Woche ermittelten Auswertungsergebnissen war im Vergleich zu den Ergebnissen der Beurteilung nach 8 Wochen noch manchmal eine gewisse Hemmwirkung festzustellen. Ohne Berücksichtigung der Zahl der auszählbaren Einzelkolonien war eine übereinstimmende Bewertung der Abtötungszeiten nur bei der 4%igen, 5%igen und 6%igen Formaldehydlösung sowie bei der Sigambollösung (5+5) möglich. Die 3%ige Formaldehydlösung ließ eine Auswertung der Versuchsergebnisse erst nach der 8. Woche zu. Die gleiche Zeit war für die Sigambollösungen (3+7) und (4+6) erforderlich.

Für Kulturen des *Mycobacterium avium* und des *Mycobacterium paratuberculosis* wird eine 8-wöchige Bebrütungsdauer als erforderlich angesehen, während die weniger resistenten humanen und bovinen Tuberkulosestämmen gegenüber den niedrigen Konzentrationen des Formaldehyds und Sigambols bereits nach 6 Wochen eine endgültige Bewertung zulassen.

4. Resistenzverhalten von 3 Wochen und 6 Wochen alten Tuberkelbakterien- und Paratuberkelbakterienstämmen

Bei der Weiterzüchtung der Laborstämmen auf Petragnani-Nährböden zeigten sowohl die Tuberkelbakterien als auch die Paratuberkelbakterien innerhalb von 2-3 Wochen einen dichten Kulturrasen. Es lag deshalb nahe, zu untersuchen, ob diese jüngeren Stämme gegenüber den 6 Wochen alten Stämmen irgendwelche Resistenzunterschiede erkennen ließen. Im folgenden Versuch wurden deshalb

ca. 3 Wochen alte Kulturen der Paratuberkulosestämmen C 300 und III, des humanen Stammes 90 A und des aviären Stammes Gall W gegenüber 6 Wochen alten Kulturen derselben Stämme geprüft.

Wie aus der Tabelle IV ersichtlich ist, zeigten die 3 Wochen alten Kulturen des *Mycobacterium paratuberculosis* und des *Mycobacterium avium* im Vergleich zu den 6 Wochen alten Kulturen keine wesentlichen Resistenzunterschiede. Dagegen wurde der 3 Wochen alte humane Stamm 90 A von der 1%igen Formaldehydlösung um eine Versuchszeit früher (= 60 Minuten) abgetötet.

Tabelle IV: Vergleichende Untersuchungen über die Chemoresistenz von 3 Wochen und 6 Wochen alten Stämmen.

Stämme	Formaldehyd 1%ig				Formaldehyd 3%ig				Sigambol (1-9)				NaCl-Kontrolle	
	Einwirkungszeiten in Minuten				Einwirkungszeiten in Minuten				Einwirkungszeiten in Minuten					
	15	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120		
Stamm C 300 3 Wochen alt	++++	++++	++++	+++	++++	++++	+	-	++++	++++	++++	-	++++	
Stamm C 300 6 Wochen alt	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	+++	-	++++	
Stamm III 3 Wochen alt	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Stamm III 6 Wochen alt	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++	++++	++++	++++	
Var. hominis Stamm 90 A 3 Wochen alt	++++	+++	-	-	+	-	-	-	++	+	-	-	++++	
Stamm 90 A 6 Wochen alt	++++	++++	+	-	++	-	-	-	+++	++	-	-	++++	
Stamm "Gall W" 3 Wochen alt	++++	++++	++++	++	++++	+++	-	-	++++	++++	++	-	++++	
Stamm "Gall W" 6 Wochen alt	++++	++++	++++	+++	++++	++++	-	-	++++	++++	+++	-	++++	

C. Besprechung der Ergebnisse

Die pathogenen und apathogenen säurefesten Bakterien, die nach Bergey (3) in die Gattung Mycobacterium Lehmann und Neumann gehören, zeigen sowohl innerhalb der Gattung als auch innerhalb der Arten erhebliche Unterschiede in ihrer Chemoresistenz. Nach Eisenmenger (8), Nassal (35), sowie Trautwein und Mitarbeitern (48) besitzt von den Tuberkelbakterien der Typus humanus die geringste und der Typus gallinaceus die größte Resistenz, während der Typus bovinus eine Mittelstellung einnimmt. Daneben werden aber auch innerhalb der einzelnen Typen noch größere Resistenzschwankungen nach oben und unten beobachtet. Apathogene Mycobacterien waren nach Untersuchungen von Dewald (7) mit Ausnahme von 2 Stämmen weniger widerstandsfähig als bovine Tuberkelbakterien. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Resistenz des Mycobacterium paratuberculosis gegenüber erprobten, gut baktericid wirkenden Desinfektionsmitteln im Vergleich mit humanen, bovinen und aviären Tuberkelbakterien geprüft. Dabei kam es in erster Linie darauf an, die reine baktericide Wirkung des Desinfektionsmittels zu ermitteln. Die Suspensionsmethode nach Meyn und Schliesser (33), bei der die Beziehungen zwischen keimabtötender Wirkung eines Präparates, seiner Konzentration und Einwirkungszeit weitgehend geklärt werden können, war dazu am geeignetsten. Auch hat sie den Vorteil, mit genau dosierten Bakterienmengen arbeiten zu können, was nach Untersuchungen von Meyn und Schliesser (33), Dewald (7), Trautwein und Mitarbeitern (48) einen wesentlichen Einfluß auf das Ergebnis einer Desinfektionsmittelprüfung haben kann. Bei allen Versuchen wurde deshalb mit der relativ hohen Keimmenge von 20 mg/ccm Bakteriensuspension gearbeitet.

Die Versuche zeigten, daß die Paratuberkelbakterien in ihrer Chemoresistenz den aviären Tuberkelbakterien weitaus näher stehen als den humanen und bovinen Tuberkelbakterien. Dabei war das Resistenzverhalten der Paratuberkelbakterienstämme ziemlich einheitlich. Von den 8 getesteten Stämmen ließen nur die Stämme II und C 300 größere Resistenzunterschiede erkennen. Bei den 6 übrigen Stämmen war nach 120 Minuten Einwirkungszeit von Sigambol (1+9) keine wesentliche Hemmung des Wachstums eingetreten. 3%ige Formaldehydlösung tötete diese 6 Stämme erst nach 120 Minuten ab.

Bei den einzelnen Stämmen des Mycobacterium tuberculosis variatio hominis und bovis waren dagegen entsprechend den Untersuchungen von Eisenmenger (8), Nassal (35), Trautwein und Mitarbeitern (48) gewisse Resistenzschwankungen aufgetreten. Unterschiede in der Chemoresistenz zwischen Typus humanus und Typus bovinus äußerten sich darin, daß humane Stämme von der

1%igen Formaldehydlösung in 60 - 120 Minuten, bovine Stämme dagegen erst in 120 Minuten und mehr abgetötet wurden. Bei der 3%igen Formaldehydlösung traten diese Unterschiede nicht auf. Hier lagen die Abtötungszeiten gegenüber humanen und bovinen Stämmen zwischen 30 und 60 Minuten. Bei Sigambol (1+9) war entgegen den Untersuchungen von N a s s a l (35) sowie T r a u t w e i n und Mitarbeitern (48), die dieser Konzentration den gleichen baktericiden Effekt wie der 3%igen Formaldehydlösung zusprechen, eine vollständige Hemmung des kulturellen Wachstums erst nach 60 - 120 Minuten eingetreten.

Eine weit größere Resistenz als humane und bovine Tuberkelbakterien zeigten wiederum die aviären Stämme. Während 1%ige Formaldehydlösung im Vergleich zur NaCl-Kontrolle kaum imstande war, eine Hemmung des Wachstums in 120 Minuten herbeizuführen, lagen die Abtötungszeiten für die 3%ige Formaldehydlösung bei 60 - 120 Minuten und für Sigambol (1+9) bei 120 Minuten und darüber.

Infolge der großen Widerstandsfähigkeit von *Mycobacterium paratuberculosis* und *Mycobacterium avium* gegenüber der 3%igen Formaldehydlösung und Sigambol (1+9) wurde in einem weiteren Versuch die keimabtötende Wirkung höherer Konzentrationen dieser Präparate geprüft. Gegenüber den besonders resistenten Paratuberkulosestämmen III und 3390 sowie dem aviären Stamm Gall Da 38 waren 4%ige und 5%ige Formaldehydlösungen in 60 Minuten und 6%ige Formaldehydlösung in 30 Minuten wirksam. Die beiden Paratuberkulosestämmen III und 3390 wurden von den Sigambollösungen (2+8) bzw. (3+7) erst in 120 Minuten abgetötet, ein Abtötungseffekt, der der Wirkung der 3%igen Formaldehydlösung entsprach. Für den gleichen baktericiden Effekt, wie er durch eine 3%ige Formaldehydlösung in 60 Minuten an humanen und bovinen Tuberkelbakterien erreicht wird, ist demnach für Paratuberkelbakterien und Geflügeltuberkelbakterien eine 4-5%ige Formaldehydlösung notwendig. Daraus resultiert für die praktische Stalldesinfektion die Forderung, für eine wirksame Desinfektion paratuberkulös verseuchter Stallungen entweder mindestens eine 4%ige Formaldehydlösung bzw. die entsprechende Sigambollösung anzuwenden oder die Einwirkungszeit, wie N a s s a l (35) vorschlägt, zu verlängern. Der Autor macht für die praktische Tuberkulosedesinfektion die Einwirkungszeit eines Desinfektionsmittels von der Resistenz des Erregers abhängig und empfiehlt für den Typus bovinus die doppelte und für den Typus gallinaceus die dreifache Einwirkungszeit wie für den Typus humanus. Infolge der Ähnlichkeit der Paratuberkelbakterien hinsichtlich ihrer Chemoresistenz ergibt sich für die praktische Desinfektion das gleiche wie für die Geflügeltuberkel-

bakterien.

Bei der Züchtung von Paratuberkelbakterien auf Petragnani-Nährböden in Baktericidieversuchen war eine endgültige Bewertung des baktericiden Effekts der Präparate erst nach der 8. Woche möglich. Eine vorzeitige Auswertung der Kulturversuche barg die Gefahr in sich, daß die bakteriostatische Wirkung der Desinfektionsmittel auf die Keime als baktericider Effekt gewertet wurde. Offensichtlich sind gewisse Konzentrationen eines Präparates nicht in der Lage, alle Keime in kürzester Zeit restlos abzutöten. Man muß vielmehr annehmen, daß sich durch das Desinfektionsmittel geschädigte Keime in einem günstigen Nährmedium erst nach einiger Zeit erholen und dann wieder vermehren können.

Bei vergleichenden Untersuchungen über die Chemoresistenz von 3 Wochen und 6 Wochen alten Kulturen zeigte sich, daß die jüngeren Kulturen des *Mycobacterium paratuberculosis* und des *Mycobacterium avium* gegenüber den 6 Wochen alten Kulturen keine Resistenzunterschiede aufwiesen. Dagegen schienen die jüngeren Kulturen eines humanen Stammes empfindlicher zu sein als die älteren. Man kann diese Tatsache vielleicht auch als weiteren Beweis der größeren Chemoresistenz der Paratuberkulose- und Geflügeltuberkulosestämme deuten.

IV. Zusammenfassung

Es wurden vergleichende Desinfektionsversuche mit 1%igen und 3%igen Formaldehydlösungen sowie 10%igen Sigambollösungen an 8 Paratuberkulosestämmen, 2 humanen, 3 bovinen und 2 aviären Tuberkelbakterienstämmen durchgeführt. Die Versuche wurden mit konstanten Keimmengen in der Suspensionsmethode nach Meyn und Schliesser (33) vorgenommen. Die baktericide Wirkung höherer Konzentrationen von Formaldehyd und Sigambol ist an 2 Paratuberkulosestämmen und an einem aviären Stamm geprüft worden. Ferner wurde untersucht, ob das Alter der Kulturen die Chemoresistenz beeinflusst. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Die Paratuberkelbakterien stehen in ihrer Resistenz gegenüber Formaldehyd und Sigambol den aviären Tuberkelbakterien sehr nahe. Sie sind resistenter als humane und bovine Tuberkelbakterien.
2. Das Verhalten der einzelnen Paratuberkulosestämmen gegenüber Formaldehyd und Sigambol war ziemlich einheitlich. 6 Stämme waren stets gleich resistent. 2 Stämme wiesen eine geringere Resistenz auf.
3. Besonders widerstandsfähige Stämme des *Mycobacterium paratuberculosis* und des *Mycobacterium avium* wurden von 3%iger Formaldehydlösung nach 120 Minuten, von 4%iger und 5%iger Formaldehydlösung nach 60 Minuten und von 6%iger Formaldehydlösung nach 30 Minuten abgetötet. Die 20%ige Sigambollösung tötete die Paratuberkelbakterien in der gleichen Zeit ab wie die 3%ige Formaldehydlösung.
4. Die gleichzeitig vorhandene wachstumshemmende Wirkung der Desinfektionsmittel auf Mycobakterien kann eine Baktericide vortäuschen, wenn in Kulturversuchen eine Beurteilung des Wachstums früher als nach 6-8 Wochen erfolgt.
5. Resistenzunterschiede sind bei Verwendung 3 Wochen und 6 Wochen alter Paratuberkulose- und Geflügeltuberkulosestämmen nicht aufgetreten.

V. Literaturverzeichnis

1. Alexieff-Goloff, N., A.: Zur Frage der Pathogenese und Bazillenausscheidung bei Rinderparatuberkulose.
Zschr. Inf.krkh. Haustiere 36, 313 (1929)
2. Beller, K. und
Langenscheid, E.: Stalldesinfektion mit Coniferol.
Tierärztl. Umschau 8, 147 (1953)
3. Bergey's Manuel of Determinative Bact., Baltimore 1948
4. Bierbaum, A.: Die Paratuberkulose des Rindes im Regierungsbezirk Arnberg.
Vet. med. Diss. Giessen 1950
5. Börger, K.: Ist eine Stalldesinfektion mit Aerosolen möglich?
Prakt. Tierarzt, 3, 52 (1955)
6. Breuning, E.: Versuche zur Desinfektion bei Tuberkulose unter Berücksichtigung der praktischen Verhältnisse und unter Anwendung des Kulturverfahrens.
Vet. med. Diss. München 1939
7. Dewald, G.: Vergleichende Desinfektionsversuche mit Formalin an pathogenen und apathogenen Mycobacterien.
Vet. med. Diss. München 1957
8. Eisenmenger, H.: Desinfektionsversuche mit Tuberkelbakterien unter Anwendung des Kulturverfahrens.
Vet. med. Diss. Leipzig 1937
9. Erichson, C.: Die Paratuberkulose der Rinder, ihre Diagnose und Bekämpfung.
Vet. med. Diss. Hannover 1926
10. Fortmann, A.: Die Paratuberkulose des Rindviehs im nördlichen Oldenburg.
Vet. med. Diss. Hannover 1925

11. Grün, L.: Untersuchungen über die baktericide Wirkung verschiedener zur Luftentkeimung verwendeter Glykole und über ihren Wirkungsmechanismus. Zbl. Bakt.-Abt. I Orig. 156, 285 (1950-51)
12. Grün, L.: Zur Wirkung des Triäthylenglykols auf Mycobakterien. Tbk. arzt, 6, 177 (1952)
13. Grün, L. Scholtis: Untersuchungen über die Anwendung von Triäthylenglykol zur Luftdesinfektion. Zbl. Bakt. I Orig. 154, 357 (1949)
14. Gust, R., Witzenhausen, R.: Über den praktischen Desinfektionswert des Phagogene H.N.C. absolu N. 304, beurteilt nach einer neuen Prüfmethode. Arch. Hyg. 136, 487 (1952)
15. Hagan, W., A.: Age as a factor in susceptibility to Johne's disease. Cornell Vet. 28, 34 - 40 (1938)
zit. n. Jber. Vet. Med. 60, 174 (1937)
16. Hailer, E.: Versuche über die Beziehung zwischen Formaldehyd und der Bakterien- und Sporenzelle. Biochem. Zschr. 25, 69 (1921)
zit. n. Zbl.Bakt.Ref.Abt. II, 73, 426 (1922)
17. Heicken, K.: Über die Stalldesinfektion bei Tuberkulose. Berliner Münchner tierärztl. Wschr. 5, 94 (1951)
18. Heicken, K.: Über die Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel zur Wäsche- und Kleiderdesinfektion. Zschr. Hyg. 129, 303 (1949)
19. Heicken, K.: Die Prüfung und Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel für die Zimmerdesinfektion. Zschr. Hyg. 129, 538 (1949)
20. Holz, W.: Neue Untersuchungsverfahren zur Prüfung von Desinfektionsmittel auf Baktericidie unter Berücksichtigung der Flächendesinfektion bei Tuberkulose. Zbl. Bakt.-Abt. I Orig. 162, 452 (1955)

21. Holz, W.: Zur Frage der Stalldesinfektion bei Tuberkulose.
Tierärztl. Umschau 8, 360 (1953)
22. Holz, W.: Versuche zur Tbc-Desinfektion mit Rhoniferol.
Tierärztl. Umschau 10, 287 (1955)
23. Huber, F.: Das Vorkommen der Paratuberkulose des Rindes in Großdeutschland.
Vet. med. Diss. Hannover 1941
24. Hutyra, F., Marek, J.: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Jena 1954.
25. Kliewe, H.: Über die Anwendung von Desinfektionsmitteln in Tröpfchen- und Nebelform.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 148, 388 (1942)
26. Kliewe, H.,
v. Wasielewski, E.: Verfahren und Mittel zur Desinfektion der Luft.
Arch. Hyg. 135, 286 (1951)
27. Krieglsteiner, B.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit von Formaldehyd-Aerosol- und Formaldehyd-Sprühdeseinfektion in tb-verseuchten Ställen.
Vet. med. Diss. München 1955
28. Langenscheid, E.: Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Phagogene H.N.C. 304
Mhefte prakt.Tierhk. 4, 465 (1952)
29. Langenscheid, E.: Euphagol, ein neues Desinfektionsmittel für die Raumesinfektion.
Berliner Münchener tierärztl. Wschr. H. 7, 104 (1954)
30. Lockmann, G., Heicken, K.: Über die keimtötende Wirkung von einigen Säuren und von freiem Alkali auf Tbc-Bazille
Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 135, 500 (1937)
31. Meyer, K.F.: Über die durch säurefeste Bakterien hervorgerufene diffuse Hypertrophie der Darmschleimhaut des Rindes.
Vet. med. Diss. Zürich, 1908

32. Meyn, A.: Johnesche Krankheit (Paratuberkulose)
Mhefte prakt. Tierhk. 5, 121 (1953)
33. Meyn, A., Schliesser, Th.: Desinfektionsversuche an Tuberkelbakterien
mit dem Präparat "QE 383".
Mhfte prakt. Tierhk. 7, 187 (1955)
34. Miessner, H. Trapp: Der chronische infektiöse Darmkatarrh des
Rindes. Mitgeteilt in den Jahresberichten
der beamteten Tierärzte Preussens 1908,
II. Teil, 48
35. Nassal, J.: Experimenteller Beitrag zur unterschiedli-
chen Chemoresistenz der Tuberkelbakterien.
Tierärztl. Umschau 11, 54 (1956)
36. Potter, T., S.: The possibility of prevention of tubercu-
losis by non poisonous chemical air disin-
fection and by killed vaccines Science 99,
406 (1944)
37. Rolle, M., Hausmann, W.: Über ein neues Tuberkelbakterien abtöten-
des Mittel.
Münch. med. Wschr. 93, 1102 (1951)
38. Rolle, M., Mayer, H.: Untersuchungen über das Coniferol V als
Desinfektionsmittel.
Tierärztl. Umschau 9, 86 (1954)
39. Rolle, M., Mayr, A.: Coniferenöle als Desinfektionsmittel gegen
Tuberkulose.
Mhefte prakt. Tierhk. 4, 421 (1952)
40. Schaaf, J. Beerwert, W.,
Grodde, S.: Über die Paratuberkulose des Rindes, ihre
Verbreitung, Diagnose und Bekämpfung.
Mhefte prakt. Tierhk. 8, 144 (1956)
41. Schällibaum, R.: Die Stalldesinfektion bei Tuberkulose.
Vet. med. Diss. Zürich 1955
42. Schmid, B.: Untersuchungen zur Frage der keimtötenden
Wirkung von Coniferenölen.
Zschr. Hyg. 138, 180 (1953)

43. Seelemann, M., Börger, K.: Zur Frage der Wirksamkeit des Desinfektionsmittels "Coniferol".
Tierärztl. Umschau 9, 83 (1954)
44. Seelemann, M., Börger, K.: Desinfektionsversuche mit Euphagol unter besonderer Berücksichtigung seiner Wirkung auf Tuberkelbakterien.
Mhefte prakt. Tierhk. 6, 130 (1954)
45. Seelemann, M., Buschkiel, H.: Stalldesinfektionsversuche zur Abtötung von Tuberkelbakterien.
Kieler Milchw. Forschber. 8, 395 (1956)
46. Spicer, A.: The cure and prevention of Johnes's disease:
The experiences of a veterinary practitioner.
Vet. Rec. 606, 1936
zit. Jber. Vet. Med. 60, 174 (1937)
47. Trautwein, K.: Bekämpfung der Rindertbc und Stalldesinfektion.
Mhefte prakt. Tierhk. 4, 563 (1952)
48. Trautwein, K., Nassal, J., Kopp, Ch., Karle, L.: Die Desinfektionswirkung von Glykolen auf Tuberkelbakterien und ihre praktische Anwendung.
Mhefte prakt. Tierhk. 7, 171 (1955)
49. Werner, R.: Über die Einwirkung von Koniferenölen auf Bakterien.
Vet. med. Diss. München 1951
50. Witzzenhausen, R., Gust, R.: Über die Voraussetzungen der Baktericidie des Präparates Phagogene H.N.C. absolu N. 304, seinen Gehalt an Phenolen und seine Toxizität.
Arch. Hyg. 137, 174 (1953)
51. Zeller, H.: Desinfektionsversuch mit dem Desinfektionsmittel Desintan.
Zschr. Hyg. 130, 235 (1949)

Zum Abschluß vorliegender Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. A. M e y n für die Überlassung des Themas und für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Auch Herrn Dr. Th. S c h l i e s s e r möchte ich für seine wertvollen Hinweise und Ratschläge recht herzlich danken.

Lebenslauf

Als Sohn des Land- und Gastwirts Karl Metz und seiner Ehefrau Lina, geb. Schaller, wurde ich am 22.2. 1931 in Winbuch/Opf. geboren.

Nach Besuch der dortigen Volksschule trat ich 1942 an das Hum. Gymnasium in Amberg über, wo ich 1951 das Abitur ablegte. Von 1952 - 1953 studierte ich an der Philosophisch-Theologischen Hochschule in Regensburg Naturwissenschaften. Im Wintersemester 1953/54 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München. Nach dem Wintersemester 1954/55 legte ich mein Physikum ab und beendete im Januar 1958 mein Studium mit dem tierärztlichen Staatsexamen.

